Travail du Laboratoire de M. le Professeur Borrel
de l'Institut Pasteur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1919 — THÈSE — N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Charles MADELAINE

Né à Manerbe (Calvados), le 31 janvier 1881
Licencié ès sciences
Ancien Interne des Hôpitaux de Caen
Elève de l'Institut Pasteur

PHAGOCYTES
ET
BACILLE TUBERCULEUX

Président : M. Ch. ACHARD, *professeur*

PARIS
IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & Cie, Éditeurs
15, Rue Racine (VIe)

1919

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER

ASSESSEUR : G. POUCHET

PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	Auguste BROCA
Physiologie	Ch. RICHET
Physique médicale	WEISS
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	N.
Pathologie et Thérapeutique générales	ACHARD
Pathologie médicale	N.
Pathologie chirurgicale	N.
Anatomie pathologique	LETULLE
Histologie	PRENANT
Opérations et appareils	N.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	P. CARNOT
Hygiène	N.
Médecine légale	N.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	N.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER
Clinique médicale	N. WIDAL GILBERT CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la 1re enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants	HUTINEL
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	DUPRÉ
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux	Pierre MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
Clinique chirurgicale	DELBET QUENU LEJARS HARTMANN
Clinique ophtalmologique	De LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	LEGUEU
Clinique d'accouchements	BAR COUVELAIRE RIBEMONT-DESSAIGNES
Clinique gynécologique	N.
Clinique chirurgicale infantile	N.
Clinique thérapeutique	Albert ROBIN

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ALGLAVE	GUILLAIN	LOEPER	ROUSSY
BERNARD	JEANNIN	MAILLARD	ROUVIERE
BRANCA	JOUSSET (A.)	MOCQUOT	SCHWARTZ (A.)
BRUMPT	LABBE (H.)	MULON	SICARD
CAMUS	LAIGNEL-LAVASTINE	NICLOUX	TANON
CASTAIGNE	LANGLOIS	NOBECOURT	TERRIEN
CHAMPY	LECENE	OKINCZYC	TIFFENEAU
CHEVASSU	LEMIERRE	OMBREDANNE	VILLARET
DESMAREST	LENORMANT	RATHERY	ZIMMERN
GOUGEROT	LEQUEUX	RETTERER	
GREGOIRE	LEREBOULLET	RIBIERRE	
GUENIOT	LERY	RICHAUD	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR ACHARD

A TOUS CEUX QUI NOUS ONT DONNÉ
LEUR ENSEIGNEMENT ET PRODIGUÉ LEURS CONSEILS

A Monsieur le Docteur O. DUBOSCQ
Professeur de Zoologie à l'Université de Montpellier

A NOS MAITRES DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE CAEN

A Monsieur le Docteur F. MOUTIER
Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

A Monsieur le Docteur KUSS
Médecin chef du Sanatorium d'Angicourt

A Monsieur le Docteur ROUX
Directeur de l'Institut Pasteur

A Monsieur le Docteur BORREL
Professeur à l'Institut Pasteur

A MM. les Docteurs LEGROUX, PINOY
de l'Institut Pasteur

A Monsieur le Docteur L. MERCIER
Professeur de Zoologie à l'Université de Caen

INTRODUCTION

La pénétration d'un microbe sous la peau d'un animal peut se manifester par une tuméfaction locale ou ne donner lieu à aucune modification apparente.

La présence d'une tuméfaction coïncide avec une absence de troubles généraux, l'animal reste indemne.

L'absence de tuméfaction est suivie d'une altération générale de l'organisme, l'animal succombe.

Metchnikoff nous a montré que la localisation de globules blancs au point de pénétration du microbe, était un phénomène utile pour l'organisme, que la résistance de l'animal était due à des propriétés particulières de ses globules blancs, qui leur permettaient de se porter vers l'endroit menacé, d'englober, de tuer, de digérer le microbe infectant. L'absence de globules blancs permettant au contraire la multiplication sur place des microbes et leur dissémination dans l'organisme.

Metchnikoff a donné à ces éléments blancs du sang « cellules amiboïdes, capables de saisir et de digérer les microbes et d'autres éléments figurés » le nom de *phagocytes*. Il a classé ces phagocytes en

microphages ou leucocytes polynucléaires et en macrophages ou leucocytes mononucléaires, assignant à chacun d'eux un rôle spécial dans la lutte contre les divers agents microbiens. Il a, en un mot, fait de l'activité phagocytaire des globules blancs, le facteur de résistance d'un animal à tout agent infectieux.

A la suite de ces données, le leucocyte nous est apparu comme le défenseur de l'organisme.

En clinique, il est d'un usage courant d'admettre, qu'une infection donnée aura une terminaison favorable, si l'afflux leucocytaire en un point touché par le microbe est abondant et rapide, si l'hyperleucocytose est précoce et persistante ; on porte au contraire un pronostic défavorable, en cas d'hypoleucocytose.

Pour lutter contre les maladies infectieuses nous cherchons à mobiliser l'armée des globules blancs et à la diriger vers les microbes.

En un mot, nous faisons du globule blanc protecteur de l'organisme le synonyme de phagocyte.

Or, nous savons qu'en Tuberculose, le tubercule est formé de cellules migratrices, venues d'ailleurs sur le point infecté.

Borrel, étudiant la genèse du tubercule pulmonaire chez le lapin, a décrit dans les premières heures l'afflux précoce des leucocytes polynucléaires et l'englobement des bacilles par ces leucocytes. Dès le troisième jour, ces éléments blancs commencent à présenter des signes de dégénérescence : état trou-

ble du noyau, chromatolyse, et ils disparaissent au cinquième jour. Pendant ce temps, dès le deuxième jour, arrivent des grands leucocytes mononucléaires à expansions protoplasmiques englobant les bacilles et constituant ultérieurement par leur fusion des cellules géantes ; à la périphérie ils se transforment en cellules épithélioïdes. Le tubercule est ainsi constitué. Plus tard, son ramollissement s'accompagnera d'un nouvel afflux de leucocytes polynucléaires, le bacille se généralisera dans l'organisme, ce qui amènera la mort de l'animal.

Les lignes précédentes nous montrent que le bacille tuberculeux a été précocement englobé, mais non digéré. On peut donc se demander si dans le cas particulier de la Tuberculose, les leucocytes méritent le nom de phagocytes ?

Telle est la question à laquelle nous allons essayer de répondre dans le présent mémoire.

PHAGOCYTES
ET
BACILLE TUBERCULEUX

CHAPITRE PREMIER

Théorie de la Phagocytose de Metchnikoff

« C'est par une étude approfondie et progressive que Metchnikoff, s'élevant des êtres les plus simples aux êtres les plus complexes, arriva à la conception de la phagocytose. »

« La découverte lui appartient entièrement. Avant ses recherches, on connaissait la diapédèse, on savait que les leucocytes sont capables de sortir des vaisseaux, de cheminer dans les tissus, d'incorporer une série de corps étrangers y compris les microbes. Mais personne n'avait compris le rôle protecteur des cellules migratrices, personne n'avait soupçonné l'existence de la digestion intracellulaire » Roger, H. 1916.

Metchnikoff a exposé sa conception de la phagocytose dans le livre intitulé *l'Immunité dans les maladies infectieuses.*

Nous ne pouvons mieux faire que de le suivre pas à pas et nous commencerons avec lui par l'étude de la digestion intracellulaire car « ce phénomène constitue la base, fondamentale de toute la théorie développée dans ce livre, p. 52 ».

A. — La digestion intracellulaire chez les Protozoaires. Son rôle dans la défense des Protozoaires contre les parasites infectieux.

Les Protozoaires sont capables de saisir et de digérer des organismes inférieurs. Les bactéries et les autres éléments cellulaires capturés, sont transportés dans le cytoplasme où ils s'entourent de vacuoles transparentes dans lesquelles les êtres avalés sont tués, digérés. Les vacuoles digestives se remplissent d'un liquide qui donne une réaction acide.
L'exemple de l'Amibe ayant seulement englobé une partie d'un filament d'Oscillariée est des plus caractéristiques.

« Tandis que la partie libre de l'Oscillariée conserve ses propriétés normales et se présente colorée en vert bleuâtre, la partie englobée change progressivement de coloration, elle prend d'abord une teinte vert foncé qui devient ensuite jaune clair, rouge, brun et finalement brun rouge. En même temps la paroi cellulosique de l'Algue commence à se ramollir et les cellules se disloquent en petits

tronçons qui ne tardent pas à être rejetés au dehors. »

Autrement dit, un élément cellulaire en voie de digestion perd sa couleur, sa forme primitive et se réduit à l'état de fragments n'ayant plus rien de l'aspect initial.

Au cours de leur vie, un certain nombre de Protozoaires comme les Flagellés, les Infusoires peuvent être parasités. Voyons comment ces organismes réagissent à l'infection.

Les Paramécies sont quelquefois envahies par les spores d'un parasite en forme d'aiguille ou de spirille. « Faute de pouvoir les digérer à cause de la résistance de la membrane de la spore, la Paramécie les expulse comme une substance excrémentitielle quelconque. L'Infusoire se conduit de la même façon vis-à-vis des endospores bactériennes. Tandis que les bacilles du foin, si communs dans les infusions où vivent les Paramécies, sont digérés dans les vacuoles endoplasmiques, les spores de ces bacilles après un séjour plus ou moins prolongé dans les vacuoles, sont expulsées avec les excréments ».

L'état réfractaire des Protozoaires semble donc dû à la digestion intracellulaire et l'on peut dire que « tous les êtres qui, d'une façon quelconque, pénètrent dans l'intérieur du corps d'un infusoire ou d'un rhizopode, sont mis en contact avec l'endoplasme digestif de ces protozoaires. Si les intrus sont tués et partiellement digérés par les sécrétions digestives ou bien expulsés à la façon des excréments, le pro-

tozoaire reste indemne et continue sa vie normale ». « Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque l'organisme étranger résiste à cette action digestive, il s'installe définitivement dans le corps du protozoaire. Si le parasite ne se reproduit qu'en petit nombre, n'excrète aucun poison et, en général, n'exerce aucune influence nuisible sur son hôte, il devient facilement son commensal ». « Mais il y a des cas où les parasites agissent d'une façon plus ou moins nuisible sur les protozoaires qui les renferment. Alors il se produit une véritable infection, quelquefois mortelle. »

Ce qui revient à dire qu'un protozoaire ne peut résister à une infection pathogène qu'en supprimant l'agent infectieux. Cette suppression ne peut se faire que par deux mécanismes : *digestion intracellulaire ou expulsion par la fonction excrétrice.*

B. — La digestion intracellulaire chez les Planaires, les Actinies

Poursuivons l'étude de la digestion intracellulaire chez des animaux plus élevés en organisation.

Pour mieux saisir les modifications des éléments ingérés, Metchnikoff s'est servi de globules rouges nuclées dont le noyau constitue un point de repère longtemps perceptible.

La Planaire blanche des eaux douces, maintenue à jeun pendant quelques jours, pompe facilement

du sang de vertébré. Ce ver laisse par transparence apercevoir toute la longueur de son intestin avec ses nombreuses ramifications. Les cellules épithéliales de la cavité intestinale poussent des prolongements protoplasmiques qui saisisssent les globules rouges et les transportent dans leur contenu cellulaire.

Les globules rouges ainsi englobés s'arrondissent, se fusionnent entre eux, leur suc rouge diffuse dans les vacuoles qui se forment autour d'eux, la membrane se ratatine de plus en plus, du noyau il ne reste bientôt que la couche membraneuse. Au bout de plusieurs jours, les vacuoles du protoplasme ne renferment que quelques concrétions brunes irrégulières, qui finalement seront expulsées dans la cavité intestinale.

Les mêmes phénomènes s'observent chez l'Actinie. Les cellules épithéliales des filaments mésentériques de la cavité cœlentérique saisissent les globules rouges qui subissent dans leur intérieur des modifications analogues à celles que l'on rencontre dans les cellules intestinales de la Planaire.

Comme le filament d'Oscillariée englobé par l'Amibe, le globule rouge nuclée perd sa coloration, se disloque en petits fragments, il est digéré.

C. — La digestion intracellulaire dans les globules blancs du sang

Des substances albuminoïdes (sérum, blanc d'œuf, lait) introduites sous la peau d'un animal, provoquent localement une tuméfaction qui disparaît assez

rapidement, et est suivie de modifications de l'organisme, indiquant que les substances injectées ont subi des changements profonds.

De même, à la suite d'une extravasation de sang, provoquée artificiellement dans le tissu cellulaire sous-cutané du pigeon, lapin ou cobaye, il se produit une infiltration locale constituée par des leucocytes qui englobent les hématies extravasées. Celles-ci se modifient dans l'intérieur des leucocytes, y donnent lieu à la formation de pigment et finissent par disparaître complètement.

Metchnikoff, frappé par les exemples de digestion intracellulaire chez la Planaire, l'Actinie, a rapproché les deux ordres de faits et expliqué la disparition des substances albuminoïdes ou des hématies par un phénomène analogue, c'est-à-dire par une digestion intracellulaire.

Il injecte sous la peau d'un Escargot du sang défibriné d'Oie, il constate que les globules rouges nuclées se répandent dans le liquide sanguin et y restent inaltérés. Au bout de quelques heures, les leucocytes englobent un certain nombre d'hématies d'Oie. Le lendemain, tous les globules rouges sont dans l'intérieur des globules blancs de l'Escargot. Ces éléments ainsi englobés deviennent ronds, leurs parois perméables, l'hémoglobine diffuse dans des vacuoles, puis le noyau et la membrane se ratatinent et se transforment en une masse de pigment plus ou moins brun qui persiste longtemps après l'englobement.

L'injection intrapéritonéale de globules rouges d'Oie chez le Cobaye est suivie d'une disparition momentanée des globules blancs, normalement abondants dans le péritoine. Mais au bout d'une heure ou deux se produit un afflux leucocytaire constitué par quelques polynucléaires et un très grand nombre de mononucléaires. Ces leucocytes mononucléaires émettent de petits prolongements protoplasmiques à l'aide desquels ils englobent les hématies d'Oie. La membrane du globule rouge englobé se plisse, puis l'hémoglobine diffuse dans le contenu du leucocyte mononucléaire et enfin le noyau s'altère et s'imprègne lui aussi d'hémoglobine. Finalement le corps de l'hématie se désagrège, le noyau se fragmente. Les leucocytes mononucléaires ne restent pas dans le liquide péritonéal, on les rencontre au bout de trois ou quatre jours dans la partie ganglionnaire de l'épiploon, les ganglions mésentériques, le foie, la rate.

Le sort des globules rouges nuclées englobés par les leucocytes de l'Escargot, du Cobaye, est donc semblable à celui de ces mêmes globules rouges à l'intérieur des cellules intestinales de la Planaire, de l'Actinie. On est tout naturellement conduit à admettre avec Metchnikoff, qu'étant données la constance et l'identité des phénomènes, si les cellules intestinales de la Planaire, de l'Actinie sont douées de propriétés digestives, les leucocytes, cellules libres, le seront nécessairement aussi.

D. — Que se passe-t-il chez des animaux résistants auxquels on inocule des microbes

L'injection de diverses bactéries sous la peau d'animaux réfractaires, s'accompagne, comme dans le cas du blanc d'œuf et du sérum, d'afflux leucocytaire, de tuméfaction. Peu à peu, on constate que les microbes disparaissent dans l'exsudat qui, finalement, devient stérile. La tuméfaction diminue de plus en plus pour enfin se résorber complètement.

Il y a lieu de se demander, si ce qui se passe pour les globules rouges nuclées, se produit également pour les microbes, en un mot si les globules blancs sont doués vis-à-vis d'eux de propriétés digestives.

Les Daphnies avalent souvent avec leur nourriture un parasite sporulé en forme d'aiguilles fines et rigides. Grâce à leur pointe piquante, ces spores perforent l'intestin et pénètrent dans la cavité du corps remplie de sang. Les leucocytes guidés par leur sensibilité tactile se réunissent autour du corps étranger, l'englobent et le détruisent. La surface de la spore, de lisse et régulière, devient échancrée et onduleuse, se fragmente, se réduit en un amas de débris qui persiste longtemps dans le contenu du leucocyte. A la suite de cette destruction des spores du parasite par les leucocytes, les Daphnies peuvent être transportées dans l'eau pure, dépourvûe de toute nouvelle source de contamination, vivre et se

reproduire normalement. Si la spore, immédiatement après sa pénétration dans la cavité du corps, n'est pas saisie par les leucocytes, elle commence à produire toute une génération de cellules bourgeonnantes, les leucocytes disparaissent, tandis que les parasites se multiplient dans l'organisme et l'animal ne tarde pas à succomber.

Les globules blancs de la Daphnie sont donc capables d'englober, de réduire en fragment l'élément étranger, de le digérer. De plus cette digestion intracellulaire protège la Daphnie comme elle protège les Protozoaires infectés.

La pénétration de bactéridiés du Charbon chez les larves d'un scarabée est suivie d'un afflux leucocytaire, de l'englobement de la bactéridie par les globules blancs et finalement de leur digestion intracellulaire, l'animal reste indemne.

Le processus est donc le même que celui par lequel se fait la disparition des globules rouges d'Oie injectés sous la peau de l'Escargot. Dans les deux cas, les corps étrangers sont englobés, leur structure est profondément modifiée, ils perdent leur couleur primitive, se désagrègent en petits fragments, ils sont digérés.

Le Vibrion cholérique n'attire pas les globules blancs des larves de ce Scarabée, il les repousse, ce qui lui permet de se développer et d'amener la mort de son hôte.

Il nous paraît maintenant inutile de donner un plus grand nombre d'exemples mettant en relief

l'importance de la digestion intracellulaire comme facteur de la résistance des Invertébrés aux infections microbiennes.

En ce qui concerne les Vertébrés, nous choisirons le cas de l'infection tétanique et nous ne pouvons mieux faire que d'analyser le travail que Vaillard et Rouget, 1891, ont consacré à l'étude du bacille tétanique. Nous trouverons là tous les phénomènes réactionnels que peut présenter un organisme vis-à-vis d'un microbe.

Chez le Cobaye, chez le Lapin, l'inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube de culture de bacilles tétaniques chauffée à 80° , est suivie d'une tuméfaction locale qui disparaît plus ou moins rapidement.

L'examen histologique de la tuméfaction permet de suivre la destinée des spores et de saisir leurs rapports avec les éléments cellulaires. Cette étude est particulièrement facile chez le lapin. La tuméfaction produite s'entoure assez rapidement d'une enveloppe fibreuse ; cette nodosité enkystée persiste plusieurs mois ; il est facile d'en suivre toutes les phases.

Six heures après l'inoculaiion, l'exsudat est formé de leucocytes polynucléaires renfermant tous des spores. Au bout de vingt-quatre heures, l'exsudat est plus épais, plus riche en leucocytes, les spores libres sont de moins en moins nombreuses. Vers la fin du deuxième jour, parmi les spores englobées par les leucocytes, certaines présentent des signes d'altéra-

tion. Dans une même cellule, à côté de spores bien colorables, sont des spores à diamètre réduit, ou même punctiformes. Les germes ainsi modifiés sont entourés d'une zone claire, au bout de cinq à six jours, le nombre des spores colorables diminue de plus en plus, le protoplasme des leucocytes montre des vacuoles vides pour la plupart ; dans quelques-unes persiste un point central infiniment petit qui marque le dernier vestige de la spore en voie de disparition.

Les spores injectées ont donc provoqué un afflux leucocytaire, ont été englobées par les leucocytes, puis réduites à l'état de petits fragments ; elles ont été digérées par les éléments cellulaires et l'animal est resté indemne.

Quelle est maintenant l'influence de tout facteur capable d'amoindrir, d'annihiler soit l'afflux leucocytaire, soit l'englobement ou la digestion.

1° Influence des facteurs capables d'empêcher l'arrivée des leucocytes au point infecté

a) L'acide lactique exerce sur les leucocytes une action répulsive. Chez le Cobaye, comme chez le Lapin, l'inoculation sous-cutanée d'un mélange d'acide lactique et d'une culture tétanique chauffée à 80° détermine un tétanos mortel. Les leucocytes font défaut au point d'inoculation, les spores peuvent germer et la maladie évolue.

b) L'inoculation intrapéritonéale d'une petite quantité de spores mélangées à du sable stérile, protégées contre les leucocytes par une enveloppe de papier à filtrer, donne le tétanos mortel dans le délai habituel de quatre, cinq jours.

A l'autopsie, le péritoine ne présente aucune réaction appréciable, le papier est rose, il a bien été pénétré par les leucocytes, mais tandis que ces éléments blancs abondent dans les couches superficielles, ils sont de moins en moins nombreux dans la profondeur du petit sac de sable, qui par contre renferme une grande quantité de bacilles filamenteux, de bâtonnets sans renflement qui représentent le produit de la germination des spores.

L'étui de papier a permis le passage de la lymphe qui a humecté le sable et crée aux spores un milieu de culture favorable, mais son épaisseur a retardé la migration des leucocytes au centre de la masse. Grâce à ce répit, les spores peuvent végéter, et les bacilles issus de ces germes élaborent leur toxine. Lorsque les cellules migratrices parviennent enfin au contact du sable, il est trop tard pour elles d'entamer une lutte efficace ; la toxine déjà produite a diffusé à travers le papier et s'est répandue dans les humeurs.

2° Influence de l'absence d'englobement par les leucocytes

Bardach, 1899, fait périr du Charbon des chiens adultes, en leur injectant dans le sang, avant l'infec-

tion, du charbon végétal finement pulvérisé. De même chez le lapin deux injections intraveineuses d'eau stérile tenant en suspension une fine poussière de charbon de bois, suivies au bout de vingt-quatre heures d'une injection intraveineuse de 1 centimètre cube de culture tétanique chauffée trois heures à 80° donnent au neuvième jour les premiers signes d'un tétanos qui devient mortel en moins de vingt-quatre heures.

Comme chez les chiens rendus charbonneux les globules blancs dans tous les organes sont infiltrés de particules noires.

Vaillard L. et Rouget J., 1892, acceptent l'interprétation que Bardach a donnée de ses expériences ; ils pensent avec lui que les globules blancs, gorgés de charbon, deviennent incapables d'englober les bactéries et leur laissent alors la liberté de pulluler.

Comme chez la Daphnie, la larve de Scarabée, les spores germent et provoquent une maladie mortelle, lorsqu'elles ne sont pas englobées par les leucocytes.

3° Les spores étant englobées, quel est le résultat de l'absence de digestion.

Les expériences suivantes de Vincent H. 1904, nous permettent de répondre à cette question.

Un Cobaye reçoit une injection sous-cutanée de un cinquième de centimètre cube de culture sporulée de tétanos débarrassée de sa toxine par le chauffage

à 85° pendant trois heures, puis est placé dans l'étuve à 40°. La température de l'animal est prise toutes les demi heures. Un cobaye témoin ayant reçu la même dose de culture est laissé dans la cage. Lorsque la température du premier cobaye atteint 42 degrés, 42°5, il est retiré de l'étuve, son état paraît normal, l'hyperthermie décroît en une ou trois heures. Le cobaye témoin reste indemne, mais le cobaye surchauffé présente au bout de deux ou trois jours les premiers symptômes d'un tétanos à mort rapide.

Un cobaye atteint de tétanos léger, à évolution chronique et curable, soumis à l'action de l'étuve jusqu'à ce que la température atteigne 42 degrés, meurt en douze à vingt-quatre heures.

Un cobaye ayant reçu une injection de spores quarante-huit jours avant d'être mis à l'étuve, présente au bout de cinq jours les premiers signes d'un tétanos à évolution rapide.

L'autopsie de ces animaux ne montre aucune réaction locale, les viscères sont normaux, mais tous les tissus (rate, foie, moelle osseuse, tissu nerveux, sang) ensemencés en très petite quantité donnent par la culture le bacille de Nicolaïer.

Or à la température de 42 degrés, le bacille tétanique donne une culture à peu près nulle. La chaleur n'exerce pas ses effets sur le microbe pathogène mais sur l'organisme, « non sur la graine, mais sur le terrain ».

Chez les animaux ainsi surchauffés, on observe

des modifications quantitatives et qualitatives des cellules blanches du sang. Chez les animaux dont la température atteint 42 degrés, le nombre des leucocytes décroît régulièrement, tantôt la diminution de ces éléments porte sur les cellules polynucléaires, tantôt elle s'effectue aux dépens des mononucléaires.

Que sont devenues les cellules lymphatiques qui sont disparues du sang ? Sont-elles emmagasinées dans les viscères ou les organes lymphoïdes ? Sont-elles détruites ? Pour Vincent, cette dernière hypothèse est la plus acceptable. Le sang du cœur ponctionné pendant la vie ou aussitôt après la mort, manifeste la même hypoleucocytose que le sang des vaisseaux périphériques ; d'autre part, on peut observer des lésions assez prononcées des leucocytes. La cytolyse des leucocytes se manifeste dés que la température dépasse 42 degrés, le protoplasme se gonfle, le noyau se disloque et il devient difficile de reconnaître la nature des cellules ainsi altérées.

Dans les exemples précédents, la spore aussitôt après sa pénétration dans l'organisme du cobaye a été, suivant la loi générale, englobée par les leucocytes. L'influence de la chaleur, s'étant fait sentir après cet englobement, a supprimé l'action digestive du protoplasme leucocytaire, amené la destruction du globule blanc, remis la spore en liberté, lui permettant ainsi de germer.

Tout obstacle à la digestion intracellulaire est donc un facteur d'infection.

Les faits rapportés ci-dessus, nous permettent de dégager les principes suivants :

Chez un animal réfractaire la pénétration d'un microbe dans les tissus est rapidement suivie d'un afflux leucocytaire qui se traduit par une tuméfaction locale. Le microbe est englobé par les globules blancs, tantôt polynucléaires, tantôt mononucléaires, dont le protoplasme doué de propriétés digestives le tue, le digère, c'est-à-dire lui fait perdre peu à peu ses affinités colorantes, le réduit en fragments et enfin le fait disparaître.

Chez un animal sensible, les globules blancs ne sont point attirés au point d'entrée du microbe, l'englobement et la digestion ne peuvent donc s'exercer et l'agent pathogène se multiplie, se généralise dans l'organisme qui succombe.

Chez un animal réfractaire, tout facteur capable d'amoindrir l'arrivée des leucocytes au contact du microbe, d'empêcher l'englobement de ce microbe, d'annihiler le pouvoir digestif du protoplasme des globules blancs favorisera l'infection.

En un mot l'organisme se débarrasse de ses ennemis grâce à la propriété digestive du protoplasme de ses globules blancs. Pour se manifester, cette propriété digestive exige tout d'abord que les leucocytes éprouvent une chimiotaxie positive vis-à-vis des microbes et ensuite qu'ils les saisissent et les englobent.

Ce qui précède nous autorise à accepter les définitions suivantes, qui ne nous semblent pas avoir

été suffisamment et intégralement retenues par beaucoup des auteurs qui se sont servi des termes « phagocytose » « phagocyte ».

« L'englobement ne constitue pas tout l'acte phagocytaire. »

« L'acte essentiel de la phagocytose ne commence que l'englobement terminé » Besredka, 1899.

« La phagocytose se ramène à une digestion intracellulaire. »

« La propriété fondamentale des phagocytes est la digestion intracellulaire » Burnet, 1911.

Le terme phagocyte ne doit s'appliquer qu'à des « cellules amiboïdes capables de saisir et de digérer les microbes et d'autres éléments figurés » Metchnikoff, 1901.

CHAPITRE II

La Phagocytose du bacille tuberculeux d'après Metchnikoff. Critique.

La définition des termes phagocytes et phagocytose étant, d'après les pages précédentes, nettement posée par Metchnikoff, et les notions qui lui ont permis d'arriver à la conception de la phagocytose étant suffisamment mises en relief, étudions les rapports des phacocytes de Metchnikoff et du bacille tuberculeux.

Dembinski, 1899, a, l'un des premiers, étudié la phagocytose du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain chez le pigeon. Il inocule de la culture du bacille à des séries de pigeons, fait à différents intervalles de temps des examens cytologiques de l'exsudat provoqué par l'inoculation et des examens histologiques de la réaction locale. Pour ne pas troubler l'évolution de la phagocytose, un seul examen est pratiqué sur chaque animal.

Première série d'expériences faites avec le bacille tuberculeux aviaire

Vingt pigeons reçoivent dans la région sternale une inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube de culture.

Résultats fournis par l'examen cytologique de l'exsudat local.

Une demi-heure après l'inoculation, bacilles libres, quelques polynucléaires.

Au bout de deux heures, bacilles libres, quelques-uns à l'intérieur des polynucléaires, quelques mononucléaires.

Après vingt-quatre heures, plusieurs polynucléaires remplis de bacilles, quelques mononucléaires présentent des bacilles englobés.

Un exsudat de quarante-huit heures montre un grand nombre de polynucléaires renfermant dans leur intérieur des bacilles.

Le quatrième jour, le nombre des polynucléaires a diminué, la plupart présentent un noyau fragmenté en grains chromatiques. Le protoplasme des mononucléaires est souvent rempli de polynucléaires désagrégés contenant des bacilles.

Au cinquième jour, disparition des polynucléaires, persistance des mononucléaires avec les bacilles inclus dans leur intérieur.

Résultats obtenus par l'examen histologique de la réaction locale.

Ils confirment ceux fournis par l'étude précédente

de l'exsudat. C'est ainsi qu'au bout de vingt-quatre heures, on trouve les polynucléaires renfermant un grand nombre de bacilles.

« En résumé, dit Dembinski, la phagocytose sous-cutanée chez le pigeon est surtout polynucléaire pendant les deux premiers jours ; vers le troisième jour, les leucocytes polynucléaires commencent à dégénérer, et vers le cinquième ils disparaissent. Les leucocytes mononucléaires apparaissent vers le troisième jour et persistent indéfiniment. »

Dembinski fait un rapprochement entre les faits qu'il a observés et les données suivantes de Metchnikoff et Borrel.

« M. Metchnikoff (1), en 1888, a étudié sur le spermophile le rôle phagocytaire des cellules géantes. Il a démontré que les bacilles tuberculeux dégénèrent à l'intérieur des cellules géantes. A côté des bacilles normaux, il a vu des bacilles qui prennent une coloration rose faible (double coloration à la fuchsine et bleu de méthylène), d'autres qui ne prennent aucune couleur ou se colorent en bleu. Enfin, il a constaté, à l'intérieur des cellules, des corps jaunes, ayant une forme de boudins, et rappelant par leur configuration générale des bacilles tuberculeux.

Quant au stade initial de la phagocytose, M. Metchnikoff a observé les phénomènes suivants : lorsqu'on injecte la culture tuberculeuse sous la peau, dans la chambre antérieure de l'œil ou dans le sang,

1. Metchnikoff, *Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkebriesen Zelle* (*Virchow's Archiv.*, 1888, t. CXIII, p. 63).

les bacilles sont immédiatement englobés par les leucocytes polynucléaires ; ensuite apparaissent les grands leucocytes mononucléaires qui a leur tour englobent des bacilles et même des leucocytes polynucléaires avec leurs bacilles.

M. Borrel (1), qui a étudié la phagocytose dans le poumon et dans le rein du lapin, est arrivé aux mêmes résultats : au début il a vu des leucocytes polynucléaires remplis de bacilles ; ces leucocytes commencent à dégénérer vers le troisième jour : leur noyau se fragmente en gouttelettes chromatiques et devient trouble. Vers le cinquième jour, les leucocytes polynucléaires disparaissent, leur rôle est terminé. Dès la fin du deuxième jour, on constate l'arrivée de nouveaux éléments, dont le rôle est plus durable : les grands leucocytes mononucléaires (à noyau unique vésiculeux, à protoplasme abondant).»

De ce rapprochement Dembinski conclut :

« On voit que la phagocytose chez le pigeon est analogue à celle qu'ont observée M. Metchnikoff sous la peau du spermophile et M. Borrel dans le sang du lapin ; cependant elle en diffère par certains détails.

Tandis que ces savants ont observé la réaction phagocytaire immédiatement après l'injection des bacilles, la phagocytose chez le pigeon est nulle au bout d'une demi-heure, elle est faible au bout de deux à cinq heures, et elle ne s'accuse nettement

---

1. Borrel. *Tuberculose pulmonaire expérimentale.* (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1893 et 1894).

qu'après dix-huit à vingt-quatre heures. M. Borrel n'a vu de grands leucocytes mononucléaires que dès la fin de la deuxième journée, tandis que nous avons remarqué leur présence dès le début de la réaction, mais ils étaient rares et nous ne les avons jamais vu englobant des bacilles pendant les deux premiers jours. »

Pour la clarté de la critique, disons dès maintenant, que nous ne pouvons accepter la conclusion de Dembinski. Quant au stade initial de la phagocytose, les résultats qu'il a obtenus sont bien du même ordre, à quelques détails près, que ceux obtenus par Borrel, mais là s'arrête l'analogie. Comparer ce qui se passe chez le spermophile, où le bacille tuberculeux se désagrège, alors que l'élément cellulaire englobant persiste, avec ce qu'il nous signale chez le pigeon, où le bacille tuberculeux reste intact, tandis que le leucocyte polynucléaire se désagrège et disparaît, nous paraît peu facile. Reste à élucider le sort des mononucléaires ayant englobé les bacilles. Dembinski nous dira simplement quelques lignes plus loin que chez le pigeon la phagocytose du bacille aviaire est impuissante à arrêter le développement de la maladie. Ce qui, nous permet de supposer que les mononucléaires en présence du bacille tuberculeux ont subi le même sort que les polynucléaires.

Appeler phagocytes, des éléments cellulaires qui devraient saisir, digérer un microbe et qui, après l'avoir saisi, meurent, laissant le microbe en liberté,

lui permettant ainsi de se multiplier et d'infecter l'animal, ne nous paraît pas d'une très sûre logique ; nous ne croyons du reste pas devoir insister davantage.

Deuxième série d'expériences faites avec le bacille tuberculeux humain

Résultats obtenus par l'examen de l'exsudat.

Une demi-heure après l'inoculation, bacilles libres, quelques polynucléaires et mononucléaires, tendance des mononucléaires à entourer les bacilles.

Les mêmes faits s'observent au bout de la deuxième, cinquième, dix-huitième heure.

Après vingt-quatre heures, bacilles libres, polynucléaires englobant des bacilles, les mononucléaires s'entassent en rangées circulaires autour de ceux-ci, leurs contours finissent par disparaître, ce sont de véritables cellules géantes. Dans certaines cellules les noyaux se fragmentent en grains chromatiques et même dans d'autres elles perdent leurs contours, deviennent indistinctes. Les polynucléaires ne prennent pas part à la formation des cellules géantes. Les jours suivants, la formation des cellules géantes est de plus en plus prononcée, presque tous les bacilles sont inclus à leur intérieur.

Résultats obtenus par l'examen des coupes histologiques.

Des coupes d'une réaction locale âgée de vingt-

quatres heures montrent 5 à 6 cellules géantes à noyaux périphériques entourant les amas de bacilles.

Pour Dembinski « après l'inoculation avec le bacille aviaire, la phagocytose est très active et l'on peut y distinguer trois stades : elle est d'acord polynucléaire, puis mixte et enfin mononucléaire. Après l'inoculation avec le bacille humain, dès le début apparaissent à la fois des leucocytes polynucléaires et mononucléaires, c'est une leucocytose mixte initiale ; quant à la phagocytose, elle n'est pas marquée, si l'on considère les leucocytes isolés. » Avec le bacille aviaire « la phagocytose est impuissante à arrêter le développement de la maladie. « Quant au bacile humain il est aussitôt bloqué et rendu inoffensif par les nombreux leucocytes dont l'entassement forme la cellule géante, qui est considéré comme un moyen phagocytaire beaucoup plus puissant que les leucocytes isolés. »

Faisons une fois de plus remarquer que, Dembinski ne considère que l'englobement des bacilles tuberculeux par les globules blancs. Pour lui le fait à mettre en évidence est de savoir quels sont, des polynucléaires ou des mononucléaires,ceux qui arrivent les pemiers en contact avec le bacille tuberculeux. La destruction du bacille par les leucocytes polynucléaires ou mononucléaires ne retient pas longtemps son attention ; il nous paraît oublier que « l'englobement ne constitue pas tout l'acte phagocytaire, » que « l'acte essentiel de la phagocytose ne

commence que l'englobement terminé » Besredka. 1899.

S'appuyant sur les recherches de Dembinski, Metchnikoff consacre au bacille tuberculeux les lignes suivantes.

« Le pigeon nous intéresse encore davantage à cause de son immunité naturelle contre le bacille de la tuberculose humaine. Il résiste à des doses considérables de ce microbe, si virulent pour l'homme et pour la grande majorité des Mammifères et même pour quelques oiseaux (serins, perruches). M. Dembinski (1) a étudié le mécanisme de cette immunité et a pu constater que les bacilles de la tuberculose humaine rencontrent dans l'organisme du pigeon une résistance très grande de la part des phagocytes, notamment des macrophages. Ces cellules se fusionnent autour des amas de bacilles et les emprisonnement dans de véritables cellules géantes, ou macrophages polynuclées Les microphages ne jouent dans cette lutte qu'un rôle effacé, mais la résistance des macrophages est des plus efficaces. Incapables de détruire totalement les bacilles, ces phagocytes exercent sur eux une influence défavorable et les empêchent de pulluler et de manifester leur action nocive. L'importance de la défense par les macrophages ressort encore mieux de la comparaison de ce qui se passe lorsqu'au lieu de bacille de la tuberculose humaine on inocule à des pigeons des bacilles

1. *Annales de l'Institut Pasteur,* 1899, t. XIII, p. 426.

de la tuberculose aviaire. Dans ce dernier cas les microphages saisissent promptement les microbes, mais impuissants contre eux, ils périssent, tandis que les macrophages n'interviennent que tardivement et en faible proportion. Il en résulte que chez le pigeon le bacille aviaire se généralise dans l'organisme et provoque la tuberculose mortelle.

Il faut donc bien admettre que l'immunité du pigeon contre le bacille de la tuberculose humaine est l'œuvre de la défense par les macrophages. Cette conclusion est corroborée par le fait que chez la poule — également réfractaire vis-à-vis du même microbe — on observe aussi une très forte réaction macrophagique. »

En dernière analyse, chez le pigeon, le bacille tuberculeux aviaire détermine un afflux rapide des polynucléaires, l'englobement des bacilles par les globules blancs ne se fait pas attendre. D'après les notions précédentes, on pourrait augurer une issue favorable pour l'animal infecté, mais nous savons que la résistance d'un animal à une infection est due au pouvoir digestif du protoplasme des globules blancs, c'est-à-dire à la phagocytose et que l'englobement ne constitue pas tout l'acte phagocytaire, l'acte essentiel de la phagocytose ne commençant que l'englobement terminé ; or l'acte essentiel qui permettrait aux globules blancs d'être appelés phagocytes ne se produit pas. Les polynucléaires sont tués, se désagrègent, tandis que le bacille reste intact, les monocucléaires, agents plus résistants, viennent

à l'aide des polynucléaires. En présence du bacille tuberculeux, ils subissent le même sort que leurs devanciers. Les bacilles se multiplient, se généralisent et le pigeon, meurt avec des lésions de tuberculose généralisée.

Par contre, vis-à-vis du bacille tuberculeux humain, le pigeon ou la poule se montrent résistants. Le rôle des polynucléaires, bien que primitif, est peu important, les mononucléaires sont les principaux agents de cette résistance, ils entourent le bacille et forment des cellules géantes, le bloquent et empêchent sa dissémination. Le bacille est-il digéré par ces mononucléaires ? Metchnikoff n'en parle pas.

CHAPITRE III

Les rapports des globules blancs et du bacille tuberculeux, d'après nos expériences.

Le bacille tuberculeux humain, chez le pigeon, chez la poule, est-il dirégé par les leucocytes mononucléaires ?

Pour répondre à cette question, répétons en les complètant les deux types d'expériences de Dembinski.

A cet effet, injectons dans les deux caroncules d'une poule du bacille tuberculeux humain [1 centimètre cube d'une émulsion homogène opalescente dans l'eau physiologique d'une culture sur pomme de terre glycérinée âgée de huit semaines ; la même quantité de cette émulsion inoculée sous la peau d'un cobaye de 400 grammes, le tue en cinquante jours avec des lésions typiques de tuberculose].

Trois jours après l'inoculation, chaque caroncule présente une petite nodosité, peu dure, du volume d'une lentille. Enlevons la réaction locale d'un côté pour en faire l'étude histologique et laissons l'autre en place.

Les coupes histologiques nous montrent dans la lésion locale : deux zones, une centrale constituée par quelques rares leucocytes polynucléaires disséminés au milieu d'un grand nombre de leucocytes mononucléaires, une zone périphérique, formée de mononucléaires et de cellules géantes. Pas d'infiltration de polynucléaires dans les tissus environnants. Les bacilles sont entourés par les mononucléaires, ou se trouvent au centre des cellules géantes.

La lésion locale restée en place dans la caroncule de la poule évolue. Grosse comme un haricot au bout de quinze jours, elle devient ensuite de plus en plus dure. Au bout d'un an, alors que la poule est en parfaite état de santé, cette lésion locale est dure, calcifiée. Broyée, émulsionnée dans l'eau physiologique, elle tue un cobaye de 450 grammes en soixante jours.

Recommençons la même expérience en prenant du bacille tuberculeux aviaire à la place du bacille humain [1 centimètre cube d'une émulsion homogène opalescente dans l'eau physiologique d'une culture sur pomme de terre glycérinée âgée de huit semaines, la même quantité de cette émulsion inoculée sous la peau d'un lapin de 2.500 grammes le tue en trente jours avec des lésions de tuberculose généralisée].

La réaction locale d'une caroncule enlevée le troisième jour, soumise à l'examen histologique, décèle le présence d'un grand nombre de polynucléaires infiltrant les tissus. Les bacilles, avec leur disposition caractéristique en rayons de roues, remplissent

les éléments blancs. On ne trouve pas trace de mononucléaires.

L'animal ayant conservé la seconde caroncule présentant également une réaction locale, meurt quarante jours après l'inoculation présentant des lésions tuberculeuses siégeant principalement sur l'appareil digestif et ses annexes.

De ces expériences, nous pouvons conclure qu'en présence d'un bacille tuberculeux, soit aviaire, soit humain, les leucocytes polynucléaires et mononucléaires ne peuvent être qualifiés de phagocytes, c'est-à-dire de « cellules amiboïdes capables de saisir et de digérer les microbes et autres éléments figurés ».

En présence du bacille tuberculeux aviaire, polynucléaires et mononucléaires sont tués et le bacille se multiplie, se généralise dans le corps de la poule.

Avec le bacille tuberculeux humain, les polynucléaires n'interviennent pas, les mononucléaires seuls emprisonnent le bacille, empêchent sa dissémination, mais ne le digèrent pas. Leur rôle se borne à permettre à l'organisme de tolérer la présence du bacille dans ses tissus.

La destinée du bacille tuberculeux chez la poule nous paraît mettre en relief les faits suivants :

Lorsque le bacille tuberculeux se trouve d'abord en présence des polynucléaires de l'organisme qu'il envahit, les mononucléaires n'interviennent que tardivement et l'animal meurt.

Lorsque le bacille entre d'abord en contact avec

les mononucléaires, les polynucléaires restent inactifs, l'animal tolère la présence du bacille.

Ceci posé, on peut se demander quel sera le résultat de la suppression de l'afflux initial des polynucléaires chez un animal sensible et quels seront dans ce cas les éléments cellulaires qui prendront contact avec le bacille tuberculeux.

Comment peut-on, chez un animal sensible, supprimer en un point touché par le bacille l'arrivée normale et constante des polynucléaires ?

Quelles sont les notions qui nous ont permis d'établir un protocole d'expériences nous donnant un tel résultat.

1° Méthode générale permettant d'empêcher l'arrivée de leucocytes en un point d'appel extravasculaire.

Spillman (L.) et Bruntz (L.), 1911, au cours de recherches sur l'élimination de substances colorées injectées dans la cavité générale des Invertébrés et dans l'appareil circulatoire des Vertébrés, eurent leur attention attirée sur le rôle joué par les globules blancs comme agents de fixation et de transport des substances étrangères à l'organisme.

Dès que certains corps (microbes, encre de Chine, carmin) sont introduits dans l'organisme, l'individu sain s'en débarrasse très rapidement.

« L'élimination de ces substances comprend plusieurs temps qui sont :

1° Leur fixation par certaines formes de leucocytes (Phase de fixation) ;

2° Leur transport par ces éléments figurés (Phase de transport) ;

3° Leur décharge dans les organes d'excrétion, rein clos ou ouverts (Phase d'excrétion). »

La numération des globules blancs, leur coloration permettent de suivre leur destinée et de les retrouver dans les divers endroits du corps où ils se rendent.

C'est ainsi qu'une injection intraveineuse de collargol, chez un lapin, abaisse le chiffre des leucocytes dans la circulation périphérique de près de 2.000 en seize minutes, stade d'hypoleucocytose durant quelques minutes, suivi d'un stade d'hyperleucocytose. Une injection de 2 centimètres cubes de carmin ammoniacal amène une hypoleucocytose assez forte, 4.000, en vingt-neuf minutes. A ce stade d'hypoleucocytose qui dure en moyenne une demi-heure, succède un stade d'hyperleucocytose.

Werigo, 1892, montre que les leucocytes ayant capturé des substances inertes (grains de carmin) les transportent dans le foie et dans la rate. C'est pendant que les globules blancs se rendent ainsi dans ces organes, chargés des produits qu'ils ont fixés, que l'on remarque l'hypoleucocytose signalée plus haut. Ces globules blancs, dans le foie et dans la rate, abandonnent les grains de carmin et rentrent dans

la circulation générale, et leur nombre augmenté de celui des éléments néoformés pendant le stade d'hypoleucocytose constitue l'hyperleucocytose.

Chez le lapin, en effet, Achard et Weil, 1907, ont constaté, qu'après une injection de collargol, la moelle osseuse et la rate présentaient des signes de prolifération active.

Ces expériences montrent qu'à l'aide d'une injection intraveineuse de produits étrangers, il est possible d'éloigner les leucocytes polynucléaires d'un territoire vasculaire donné pendant un certain temps. Cette hypoleucocytose locale coïncidant avec la phase de transport est de quantité et de durée variable avec la nature du produit injecté.

Une expérience d'un autre ordre, due à Bouchard, et rapportée par Charrin, 1898, permet de supposer qu'il est possible de retenir les globules blancs à l'intérieur des vaisseaux, alors qu'un point extravasculaire exerce sur eux une attraction positive.

« En inoculant une culture spéciale de bacille pyocyanique à un cobaye, on détermine au point d'entrée du virus une lésion locale qui aboutit à la suppuration, à un processus gommeux. Si on traite de la même façon un deuxième cobaye dans le sang duquel on a injecté préalablement les sécrétions de ce bacille pyocyanique, on provoque non plus une maladie circonscrite, mais une affection générale grave ; de pareilles observations ont été faites avec d'autres micro-organismes, notamment avec le staphylocoque doré, le bacille du choléra des

poules, etc... L'auteur attribue ce résultat singulier à ce que parmi les produits solubles injectés dans le sang, il s'en trouve qui s'opposent à la diapédèse, par suite à la phagocytose chargée de détruire les microbes dans les conditions ordinaires.

De leur côté, les données de Pfeiffer portent plutôt à dire que par l'injection intravasculaire des toxines, l'expérimentateur a introduit autant ou peut-être plus de substances susceptibles d'éveiller l'irritabilité des leucocytes qu'il ne s'en produit dans la zone d'inoculation. L'attraction des globules blancs vers la région menacée fait alors défaut ; ces globules sont retenus à l'intérieur, leur émigration par laquelle l'organisme se défend contre l'infection est suppri- supprimée ; l'affection au lieu de rester localisée se généralise très rapidement ».

Nous basant sur les notions précédentes nous avons d'abord cherché à supprimer l'arrivée des leucocytes polynucléaires dans une plèvre qui avait préalablement reçu une émulsion microbienne, capable à elle seule de provoquer un exsudat pleural.

Protocole d'expériences

La plèvre des animaux est examinée, chez les uns au bout de vingt-quatre heures, chez les autres au bout de quarante-huit-heures. Pour permettre un examen donnant un résultat ne laissant aucun doute, les animaux sont sacrifiés.

Première série d'expériences

Injection intrapleurale et injection intraveineuse de même nature, mais de quantité variable.

Six lapins A. B. C. D. E. F. reçoivent chacun une injection intrapleurale de 4 centimètres cubes d'une émulsion opalescente dans l'eau physiologique de staphylocoques blancs tués par la chaleur (culture sur gélose de vingt-quatre heures).

De ces six lapins, deux sont sacrifiés, l'un A au bout de vingt-quatre heures, l'autre B au bout de quarante-huit heures.

La plèvre du lapin A renferme 1 centimètre cube d'exsudat constitué par des polynucléaires, la plèvre du lapin B contient 2 centimètres cubes d'exsudat formé de polynucléaires et de mononucléaires.

Des quatre autres lapins, 2 C et D reçoivent une nouvelle injection intraveineuse de 1 centimètre cube d'émulsion de staphylocoques et les deux derniers E, F seulement une injection de 1/2 centimètre cube.

Le lapin C est sacrifié au bout de vingt-quatre heures. D, au bout de quarante-huit heures, tous deux montrent une plèvre intacte sans la moindre trace d'exsudat.

Les animaux E, F sacrifiés l'un après vingt-quatre heures, l'autre après quarante-huit heures présentent dans leur plèvre un exsudat de 1/2 centimètre cube

à peine, constitué par des polynucléaires et quelques mononucléaires.

Des résultats analogues sont obtenus avec une émulsion grisâtre dans l'eau physiologique de spores d'Aspergillus fumigatus tuées par la chaleur.

Des expériences qui précèdent, il résulte que l'injection dans le système vasculaire de 1 centimètre cube d'émulsion de staphylocoques contrebalance l'action de 4 centimètres cubes de cette émulsion dans la plèvre, alors que 1/2 centimètre cube dans la veine se montre insuffisant à empêcher la formation d'un exsudat pleural à polynucléaires.

Deuxième série d'expériences

Injections intrapleurales et intraveineuses de nature différente

Si, en suivant le même procédé que précédemment, nous injectons 4 centimètres cubes d'émulsion de staphylocoques dans la plèvre, nous pouvons empêcher la formation d'un exsudat pleural avec 3 centimètres cubes d'une émulsion de spores d'Aspergillus fumigatus dans la veine, tandis que 1 centimètre cube seulement laisse les globules blancs des vaisseaux se porter dans la cavité pleurale.

Si l'injection intrapleurale était constituée par 4 centimètres cubes d'émulsion d'Aspergillus, 1/2 centimètre cube d'émulsion de staphylocoques

serait suffisant pour empêcher la formation d'un exsudat pleural.

Ces expériences nous permettent d'ajouter une notion nouvelle : celle de l'influence de la qualité de l'injection intraveineuse. Le pouvoir d'attraction exercé par le staphylocoque sur le globule blanc est plus grand que celui exercé par l'Aspergillus.

Ces faits étant acquis, nous avons appelé « *Inoculations de dérivation*, ces injections intraveineuses de substances étrangères, faites dans des conditions telles (qualité, quantité) qu'elles permettent de retenir les globules blancs à l'intérieur des vaisseaux, alors qu'un point d'appel extérieur exerce sur eux une attraction positive » Madelaine Ch., 1914.

2° Application de la méthode générale des inoculations de dérivation au cas particulier du bacille tuberculeux.

Injectons dans la plèvre d'un lapin, 4 centimètres cubes d'une émulsion opalescente dans l'eau physiologique de bacilles tuberculeux aviaires tués par la chaleur, et dans les veines l'émulsion précédente, de staphylocoques ou de spores d'Aspergillus. Nous constatons qu'une injection intraveineuse de 1 centimètre cube d'émulsion de staphylocoques ou de 2 centimètres cubes d'émulsion de spores d'Aspergillus suppriment la formation d'un exsudat pleural pendant au moins quarante-huit heures, tandis qu'une injection intraveineuse de 1/2 centimètre cube de

staphylocoques ou de 1 centimètre cube de spores d'Aspergillus le laissent se former au bout de vingt-quatre heures.

Nous pouvons donc maintenir des bacilles tuberculeux, dans la plèvre d'un lapin, à l'abri des polynucléaires du sang, pendant quarante-huit heures. Comment dans ces conditions nouvelles évoluera la tuberculose du lapin.

Les animaux mis en expérience reçoivent une injection intrapleurale de 4 centimètres cubes d'une émulsion homogène opalescente dans l'eau physiologique de bacilles tuberculeux aviaires virulents (culture sur pomme de terre glycérinée âgée de huit semaines). L'injection intraveineuse est constituée soit par une émulsion homogène opalescente de staphylocoques blancs (culture sur gélose en vingt-quatre heures, tuée par la chaleur), à la dose de 1 centimètre cube ; soit par une émulsion grisâtre de spores d'Aspergillus fumigatus (Culture sur pomme de terre, tuée par la chaleur), à la dose de 2 centimètres cubes.

Quatre lapins témoins n'ont qu'une injection intrapleurale de bacilles tuberculeux ; le premier, sacrifié au bout de vingt-quatre heures, présente dans sa plèvre un exsudat à polynucléaires de 2 centimètres cubes ; le deuxième, sacrifié après quarante-huit heures, a un exsudat pleural de 3 centimètres cubes constitué par des polynucléaires et des mononucléaires. Les deux autres animaux laissés dans leur cage permettent d'apprécier la virulence du bacille

tuberculeux employé. L'un de 2.500 grammes, devient dyspnéique au bout de onze jours, puis maigrit et meurt le trentième jour ayant perdu 800 grammes de son poids et présentant un exsudat pleural de 6 centimètres cubes avec fausses membranes épaisses caséeuses, et des lésions de tuberculose généralisée. L'autre de 1.900 grammes, comme le précédent, maigrit vers le dixième jour, présente de la dyspnée et meurt tuberculeux avec un exsudat pleural de 4 centimètres cubes au bout de vingt-sept jours.

A) *Expériences dans lesquelles l'inoculation de dérivation est constituée par du staphylocoque*

Deux animaux sont sacrifiés l'un au bout de vingt-quatre heures, l'autre au bout de quarante-huit heures et nous montrent une plèvre indemne sans la moindre trace d'exsudat. Deux autres, l'un pesant 1.900 gr. est sacrifié soixante jours après les inoculations ; son poids est resté stationnaire, ses organes (poumons, foie, rate, reins), sont infiltrés très irrégulièrement de petites granulations tuberculeuses. Le dernier animal de 2.000 grammes est sacrifié au bout de quatre mois, son poids est resté invariable, ses organes présentent les mêmes aspects que ceux du précédent.

Alors que les animaux témoins n'ayant reçu qu'une injection intrapleurale de bacilles tuberculeux

aviaires virulents, injection suivie d'un afflux de leucocytes polynucléaires, meurent en vingt-sept, trente jours ; les animaux chez lesquels l'arrivée des polynucléaires dans la plèvre infectée par le bacille tuberculeux a été supprimée au moins pendant quarante-huit heures, par une injection intraveineuse de staphylocoques, doivent être sacrifiés au bout de soixante jours, de quatre mois.

B) *Expériences dans lesquelles l'inoculation de dérivation est constituée par des spores d'Aspergillus fumigatus.*

Comme précédemment, deux animaux sont sacrifiés, le premier au bout de vingt-quatre heures, le deuxième au bout de quarante-huit heures, leur plèvre est intacte. Deux autres, un de 2.500 grammes, un de 3.000 grammes, sont sacrifiés respectivement au bout de soixante jours et de trois mois ; ils présentent des lésions tuberculeuses du même ordre que celles des animaux de la série précédente. Ces résultats confirment ceux déjà obtenus.

C) *L'injection du bacille tuberculeux n'est plus faite dans la plèvre mais dans les veines*

Injection intraveineuse de 1 centimètre cube de spores d'Aspergillus (émulsion précédente) suivie d'une injection intraveineuse de bacille tuberculeux

bovins virulents [1 centimètre cube d'émulsion homogène opalescente dans l'eau physiologique de bacilles bovins virulents ; culture sur pommes de terre glycérinée âgée de huit semaines].

Deux animaux témoins sont conservés jusqu'à leur mort, pour apprécier la virulence du bacille bovin aux doses employées.

Lapin A 2.000 grammes, meurt dix-huit jours après l'inoculation, perte de poids de 300 grammes, tubercules et lésions caséeuses dans les poumons, les reins.

Lapin B 2.500 grammes, meurt au bout de vingt-deux jours, amaigrissement de 500 grammes, mêmes lésions que l'animal précédent.

Deux lapins C, D reçoivent dix minutes avant l'injection de bacilles tuberculeux, l'inoculation de dérivation constituée par des spores d'Aspergillus fumigatus. Tous les deux meurent en quarante jours avec des tubercules non caséifiés dans les poumons et les reins.

Enfin deux autres animaux E, F ayant reçu deux injections intraveineuses de spores d'Aspergillus avant l'injection intravaineuse de bacilles tuberculeux, faites à dix minutes d'intervalle, ne meurent l'un E qu'au bout de soixante-trois jours, l'autre qu'au bout de soixante-cinq jours, avec des granulations disséminées dans les poumons, le foie, la rate, les reins.

Le fait, que les animaux ayant reçu deux injections préalables de spores présentent une survie plus

longue que ceux n'en ayant reçu qu'une, s'explique très facilement par les observations de L. Spillman et L. Bruntz. Les deux auteurs ont en effet montré qu'une injection intraveineuse de collargol était suivie d'un stade d'hypoleucocytose ne durant qu'une quinzaine de minutes, stade suivi d'hyperleucocytose, qu'une injection intraveineuse de carmin-ammoniacal était suivie d'un stade d'hypoleucocytose d'une durée d'une demi-heure, suivi d'un stade d'hyperleucocytose. Or, dans nos expériences, nous avons cherché à chasser, par l'injection intraveineuse de spores d'Aspergillus, les polynucléaires du poumon, de façon à supprimer leur contact avec le bacille tuberculeux injecté. Il faut donc supposer que la première injection intraveineuse de spores d'Aspergillus ne fait pas disparaître tous les polynucléaires des vaisseaux du poumon et que ce résultat n'est atteint que par la deuxième injection.

3° La suppression de l'arrivée des leucocytes polynucléaires, au point d'entrée des bacilles tuberculeux, permet d'obtenir une survie de l'animal infecté. Quels sont les éléments cellulaires avec lesquels le bacille entre en contact.

Il était difficile de préciser au bout de quarante-huit heures les modifications histologiques que provoquaient les inoculations microbiennes dans la plèvre ; c'est pourquoi nous avons employé la méthode d'investigation que Borrel, 1893, a inaugurée

pour l'étude de l'histogénèse du tubercule chez le lapin.

Le poumon est le premier organe où s'arrêtent les bacilles après leur introduction dans le système vasculaire ; de plus cet organe se prête admirablement aux investigations histologiques.

Etude des phénomènes qui se passent dans le poumon d'un lapin n'ayant reçu que du bacille bovin en injection intraveineuse (animal témoin).

L'injection est constituée par 1 centimètre cube d'une émulsion dans l'eau physiologique de bacilles bovins virulents. Les animaux sont sacrifiés dix minutes, trois heures, vingt-quatre heures, jusqu'à plusieurs jours après l'inoculation, de façon à pouvoir suivre pas à pas le processus pathologique. Le poumon retiré immédiatement après la mise à mort de l'animal est fixé, coupé, coloré d'après les méthodes habituelles.

Chez un animal sacrifié dix minutes après l'injection, les coupes histologiques montrent une leucocytose intense dans les capillaires, les vaisseaux, des amas de leucocytes dans les endroits où se trouvent les bacilles ; ces bacilles sont presque tous inclus dans les leucocytes. Dans les gros vaisseaux, les leucocytes sont bien isolés au centre des globules rouges et contiennent des bacilles.

Chez l'animal sacrifié au bout de trois heures, on observe les mêmes phénomènes.

Après vingt-quatre heures, la leucocytose est moins généralisée dans les vaisseaux du poumon, il

y a beaucoup moins de leucocytes isolés porteurs de bacilles dans les capillaires, les leucocytes avec leurs bacilles se localisent en certains points.

Au bout de quarante-huit heures, le noyau de ces leucocytes polynucléaires devient homogène, trouble, il se fragmente. Dans les capillaires dilatés aux endroits où se trouvent réunis bacilles et leucocytes, les polynucléaires sont en voie de désagrégation. En outre, on trouve pour la première fois, de grands éléments à noyau unique gros et peu chromatique à protoplasme peu abondant. Ces grands mononucléaires siègent à la périphérie du capillaire dont le centre est occupé par les bacilles et les amas de polynucléaires désagrégés. Avec l'arrivée de ces mononucléaires coïncide la formation de cellules géantes intravasculaires.

Dès le troisième jour la granulation est constituée, on trouve au milieu d'un capillaire un amas de leucocytes dégénérés, tout autour une ou plusieurs cellules géantes contenant des bacilles et à la périphérie des leucocytes mononucléaires. Cellules géantes et mononucléaires englobent les bacilles et les fragments de chromatine provenant de la destruction des polynucléaires. Autour du capillaire dilaté existe une agglomération cellulaire considérable, les capillaires des parois alvéolaires environnants sont remplis de lymphocytes.

Le cinquième jour, les granulations sont visibles à l'œil nu, elles grossissent progressivement grâce à l'arrivée de nouveaux éléments migrateurs. Ces

phénomènes se continuent pendant une dizaine de jours, à partir de ce moment la granulation évolue vers la caséification, cette transformation coïncide avec la généralisation de la tuberculose dans les organes et l'animal meurt le vingtième jour.

Si nous examinons de la même façon les poumons de lapins ayant reçu avant le bacille bovin les deux injections de spores d'Aspergillus, nous ne trouvons plus au bout de dix minutes de polynucléaires dans les capillaires ; les bacilles en petits amas sont entourés par des mononucléaires. Chez un animal tué au bout de trois heures, les capillaires du poumon sont dilatés, remplis de mononucléaires ayant englobé des bacilles, on ne trouve guère que deux ou trois polynucléaires relégués le long de la paroi du capillaire. Au bout de quarante-huit heures la lésion tuberculeuse est devenue plus grosse, mais toujours constituée par des mononucléaires. Au dixième jour, on ne constate pas la moindre ébauche de caséification comme chez le témoin.

Dans les expériences précédentes, l'injection de bacilles tuberculeux, en déterminant une polynucléose pulmonaire précoce et une mononucléose à la fin du deuxième jour, a tué l'animal en une vingtaine de jours. Cette même injection de bacilles tuberculeux, précédée d'injections intraveineuses de spores d'Aspergillus, n'a provoqué qu'une mononucléose locale et l'animal ne meurt qu'au bout de deux mois.

Normalement chez la poule, expérimentalement

chez le lapin, lorsque les polynucléaires accourent les premiers à la rencontre du bacille tuberculeux, l'animal meurt assez rapidement ; tandis que lorsqu'ils cèdent la place aux leucocytes mononucléaires, l'organisme, envahi, tolère la présence du bacille dans ses tissus pendant une période relativement très longue. Cette résistance du lapin et de la poule est bien due à l'intervention précoce des leucocytes mononucléaires ; ils retardent la pullulation du bacille chez le lapin et l'empêchent de manifester son action nocive chez la poule, mais ils sont incapables de le détruire, ils ne le digèrent pas.

Ces données rapprochées de la définition du terme, phagocyte, ne nous permettent pas d'accepter l'interprétation de Metchnikoff « la résistance des macrophages est des plus efficaces. Incapables de détruire totalement les bacilles, ces phagocytes exercent sur eux une influence défavorable et les empêchent de pulluler et de manifester leur action nocive. »

Limmunité dans les maladies infectieuses, p. 157.

CONCLUSIONS

Le terme phagocyte ne doit s'appliquer qu'à « des cellules amiboïdes capables de saisir et de digérer les microbes et d'autres éléments figurés. » Metchnikoff, 1901.

La digestion d'un microbe se traduit par la perte de ses affinités colorantes et par sa fragmentation.

« L'acte essentiel de la phagocytose ne commence que l'englobement terminé » Besredka, 1899.

On ne peut parler de phagocytose pour le bacille tuberculeux introduit dans l'organisme ; en effet, les leucocytes polynucléaires ne digèrent pas le bacille qu'ils ont englobé, ils sont tués, se désagrègent, tandis que le microbe reste intact, les leucocytes mononucléaires qui interviennent après les leucocytes polynucléaires subissent le même sort que leurs devanciers et ici encore le bacille englobé n'est pas digéré. Vis-à-vis du bacille tuberculeux, les leucocytes polynucléaires et mononucléaires ne sont donc pas des phagocytes au sens que l'on doit donner à ce terme.

Chez le lapin, les leucocytes mononucléaires, agissant sans le concours des leucocytes polynucléaires,

sont capables d'immobiliser le bacille tuberculeux, qui garde son intégrité, et de retarder sa dissémination ; cette action des leucocytes mononucléaires est plus marquée chez la poule où la presence du bacille tuberculeux est tolérée presque indéfiniment. Mais il s'agit là d'une simple action mécanique bien différente de la phagocytose, qui est un acte physiologique.

Vu : le Président de la thèse
CH. ACHARD

Vu le Doyen,
ROGER

Vu et permis d'imprimer
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
L. POINCARÉ

BIBLIOGRAPHIE

1900. *Achard* (C.) et *Lœper* (M.). — Les globules blancs dans la tuberculose (Comptes rendus de la Société de Biologie, 15 décembre).

1907. *Achard* (C.) et *Weil* (P.). — Le sang et les organes hématopoïétiques du lapin après injection intraveineuse de collargol (Comptes rendus de la Société de Biologie, t. LXII, p. 93).

1899. *Bardach* (J.). — Recherche sur la fièvre récurrente (Annales de l'Institut Pasteur t. XII, p. 377).

1899. *Besredka*. — Du rôle des leucocytes dans l'intoxication par un composé arsénical soluble (Annales de l'Institut Pasteur, t. XIII, p. 209).

1893. *Borrel*. — Tuberculose pulmonaire expérimentale (Annales de l'Institut Pasteur, t. VII, p. 593).

1911. *Burnet* (Et.). — Microbes et Toxines. Paris.

1898. *Charrin* (A.). — Traité de médecine de Bouchard et Brissaud, 2e édition, t. I, p. 231.

1899. *Dembinski*. — La Phagocytose chez le Pigeon à l'égard du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain (Annales de l'Institut Pasteur, t. XIII, p. 426).

1914. *Madelaine* (Ch.). — Inoculations de dérivation. De leur influence dans la tuberculose (Bulletin de la Société d'études scientifiques sur la tuberculose nos 3, mai).

1901. *Metchnickoff*. — L'Immunité dans les maladies infectieuses. Paris.

1916 *Roger* (H.). — La Presse médicale, 20 juillet.

1911. *Spillmann* (L.) et *Bruntz* (L.). — Le leucocyte éliminateur en physiologie et pathologie. Nancy.

1892. *Vaillard* (L.) et *Rouget* (J.). — Contribution à l'étude du tétanos (Annales de l'Institut Pasteur, t. VI, p. 385).

1904. *Vincent* (H.). — Contribution à l'étude du tétanos dit médical ou spontané. Influence de la chaleur (Annales de l'Institut Pasteur, t. XVIII, p. 451).

1892. *Wérigo*. — Les globules blancs comme protecteurs du sang (Annales de l'Institut Pasteur, t. VI, p. 478).

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 9

CHAPITRE PREMIER. — Théorie de la phagocytose de Metchnikoff 13

CHAPITRE II. — La phogocytose du bacille tuberculeux d'après Metchnikoff. Critique 30

CHAPITRE III. — Les rapports des globules blancs et du bacille tuberculeux, d'après nos expériences ... 40

CONCLUSIONS 59

BIBLIOGRAPHIE 61

Imp. de la Faculté de Médecine, 15, rue Racine. Paris — 4072-19